

Aus der Kinderklinik
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. med. A. Windorfer

Das Verhalten der Isocitronensäuredehydrogenase im Serum und in Erythrocyten gesunder und kranker Kinder

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt
von
Reinhard Kurth
aus
Dresden

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen
Fakultät der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Professor Dr. med. E. Wetterer
Referent: Priv.-Doz. Dr. med. F.C. Sitzmann
Korreferent: Professor Dr. med. A. Windorfer
Tag der mündlichen Prüfung: 30.7.1968

Die klinische Bedeutung der Isocitratdehydrogenase (ICDH) im Serum bei gesunden und kranken Kindern

R. KURTH* und F. C. SITZMANN

Universitäts-Kinderklinik Erlangen-Nürnberg (Direktor: Prof. Dr. A. WINDORFER)

Eingegangen am 15. September 1967

The Clinical Importance of Isocitricdehydrogenase in Healthy and Diseased Children

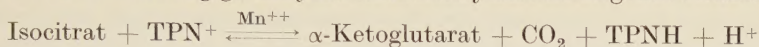
Summary. Serum isocitric dehydrogenase (S-ICD) was determined in 176 healthy children and 312 children with various diseases. In healthy children, the normal value lies at 2.2 mU with a standard deviation of $\pm 0,9$ mU. The average value is depending on the age of the patients. In 80% of all cases of acute virus hepatitis the S-ICD showed an increase in activity, but no strict correlation between the increase in activity and the prognosis of the individual case could be found in children suffering from mucoviscidosis, myatonia dystrophica, and progressiv muscular dystrophy. An activity of the S-ICD in the liquor cerebrospinalis is only measureable in cases of meningitis, where an increase can be demonstrated. The diagnostic value of the determination of the S-ICD in pediatrics is limited to the acute stadium of diseases, where high activity can be found.

Schlüsselwörter: Isocitratdehydrogenase — Enzymuntersuchungen.

Die Bestimmung der Isocitratdehydrogenase (ICDH) ist bislang wenig vorgenommen worden. Durch die Ausarbeitung einer einfachen Untersuchungsmethode [33] wurde die ICDH wiederholt zu diagnostischen und differentialdiagnostischen Zwecken herangezogen; die Zahl der Arbeiten ist jedoch gering. Für die Pädiatrie ist die mögliche Bedeutung der ICDH bisher noch nicht eingehend untersucht worden. Daher erschien es im Hinblick auf die oft diskutierte Frage der Organ- oder Krankheitsspezifität von Enzymaktivitätsänderungen angebracht, die Stellung der ICDH im Rahmen des Serumenzymusters im Kindesalter festzulegen. In den vorliegenden Untersuchungen wurde die ICDH im Serum, im Liquor cerebrospinalis, in Exsudaten und Transsudaten gemessen und der Verlauf der Aktivitätsänderung mit dem anderer Enzyme verglichen.

Die ICDH, ein Enzym des Citronensäurecyclus, ist in der Natur weit verbreitet; man kennt auch Isoenzymfraktionen der ICDH. Die Enzymverteilung liegt im Verhältnis von etwa 9:1 zwischen Cytoplasma und den Mitochondrien vor, weswegen die ICDH zu den organellenspezifischen Enzymen zählt.

Das TPN⁺-abhängige Enzym ICDH katalysiert die folgende Reaktion:



Methodik

Die Enzymaktivitätsmessungen erfolgten nach Angaben von WOLFSON u. WILLIAMS-ASHMAN mittels Testpackungen¹. Den Kindern wurde im Rahmen routinemäßiger Blutentnahmen 2 cm³ Venenblut entnommen und bei 3000 U/min zentrifugiert. In ein Reagensglas wurden pipettiert: 2,5 ml Puffersubstrat (0,1 M Triäthanolaminpuffer, pH 7,5; 0,0046 M DL-Isocitrat; 0,052 M NaCl), 0,5 ml Serum, kräftig mischen, 5 min im Wasserbad bei 25°C stehenlassen. Anschließend wird 0,1 ml Triphosphorpyridinnucleotid (0,0091 M TPN; 0,12 M Mangansulfat) zugesetzt, geschüttelt und in eine Quarzglaskuvette mit 10 mm Schichtdicke gegossen. Gemessen wurde im Eppendorf-Photometer mit temperierbarem Kuvettenhalter (25°C) bei einer Wellenlänge von 366 mμ. Nach 1 min unspezifischer Vorlaufreaktion wurde jede Minute die Extinktionsänderung über 3 min abgelesen; der Mittelwert der Extinktionsänderung ging in die Berechnung ein: $\Delta E/\text{min} \times 1880 = \text{mU ICDH/ml}$. Alle Untersuchungsergebnisse wurden in internationalen Einheiten angegeben.

Ergebnisse eigener Untersuchungen

a) Normalwerte

Zur Ermittlung der altersphysiologischen Normalwerte der ICDH-Aktivität im Serum wurden 176 Säuglinge und Kinder (102 ♂, 74 ♀) ver-

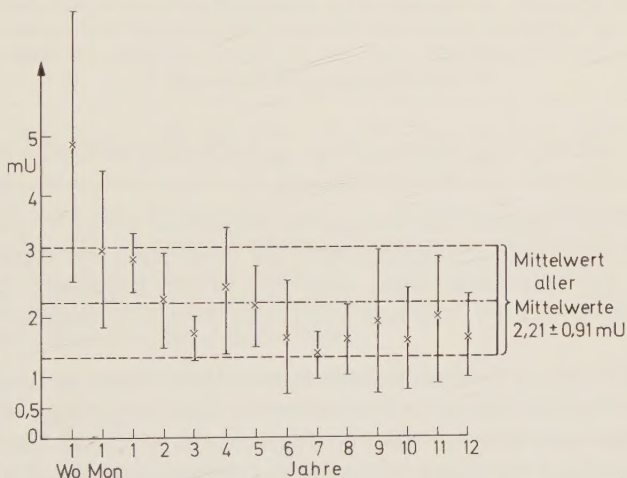


Abb. 1. Die Mittelwerte mit den entsprechenden Standardabweichungen sind aufgezeigt, wobei vor allem auf die altersabhängigen ICDH-Aktivitäten hingewiesen werden soll

schiedener Altersklassen bis zu 12 Jahren untersucht. Es handelte sich dabei entweder um klinisch gesunde Kinder oder um Rekonvaleszenten.

¹ Der Fa. Boehringer, Mannheim, Biochemische Abteilung, danken wir für die Überlassung von Testpackungen.

Die Ergebnisse unserer Normalwertsuntersuchungen sind in der Abb. 1 zusammen mit den entsprechenden Standardabweichungen aufgezeigt. Auffallend sind die Aktivitätserhöhung und der starke Abfall der Normalwerte innerhalb der ersten Lebensmonate, übereinstimmend mit dem Verhalten vieler anderer Enzyme. Der Abfall der Normalwerte setzt sich verlangsamt bis zum 6. Lebensjahr fort und erreicht dann Werte zwischen 1,4 und 2,0 mU/ml. Im Gegensatz zu BENJAMIN konnten wir zwischen den einzelnen Altersstufen bei Säuglingen des 1. und 2. Halbjahres, bei Klein- und Schulkindern signifikante Unterschiede in der ICDH-Aktivität feststellen. Cortisontherapie beeinflusste die Normalwerte nicht. Die von uns gefundenen Mittelwerte mit $2,21 \pm 0,91$ mU/ml liegen über den von SCHÖN u. BRAUNE sowie FRANKEN gefundenen Normalwerten bei Erwachsenen, jedoch unter denen von BRAUNS.

b) Untersuchungen zur Alterung der ICDH-Aktivität in vitro

Da die Frage der Haltbarkeit des Enzyms auch praktisch von Bedeutung ist, untersuchten wir den Aktivitätsverlust der ICDH im Serum nach Aufbewahrung bei $+25^{\circ}\text{C}$, $+4^{\circ}\text{C}$ sowie nach Einfrieren und Auftauen. Ein Teil der Ergebnisse ist in der Tabelle festgehalten.

Tabelle. *In vitro*-Alterung der ICDH-Aktivität im Serum bei 25°C und bei 4°C (in Prozent der Ausgangsaktivität)

Enzym		n	2. Tag M % $\pm$	3. Tag M % $\pm$	4. Tag M % $\pm$	5. Tag M % $\pm$	6. Tag M % $\pm$	7. Tag M % $\pm$
ICDH	25°C	19	79 ± 24	67 ± 17	56 ± 18	30 ± 15	27 ± 11	26 ± 18
	4°C	10	88 ± 13	75 ± 6	83 ± 8	68 ± 7	62 ± 15	55 ± 13

Beim Aufbewahren des Serums im Wasserbad bei 25°C nach 24 Std sind nur noch durchschnittlich 80% der ursprünglichen Aktivität vorhanden. Der Aktivitätsverlust setzt sich in den folgenden Tagen kontinuierlich fort, am 7. Tag sind noch etwa 25% des Ausgangswertes zu messen.

Bei 4°C ist die Enzymstabilität besser. Nach Einfrieren ergeben sich deutliche Verschiebungen der Aktivitäten, wobei sogar Aktivitätssteigerungen eintreten können. Nach 30 Tagen wurde noch eine Aktivität von 28,5% und nach 60 Tagen von 5,1% des Ausgangswertes gefunden. Bereits nach einem Tag betrug der Aktivitätsverlust schon 12%. Die biologische Halbwertszeit ist geringer als die anderer Enzyme. Der Versand von Serum zur ICDH-Bestimmung ist deshalb nicht sinnvoll.

c) Untersuchungsergebnisse bei Erkrankungen im Kindesalter

Die Messung der Enzymaktivitäten bei der akuten Virushepatitis erfolgte in den ersten Tagen des Klinikaufenthaltes, die Werte sind in

Abb. 2 aufgezeigt. Die ICDH-Aktivität lag zwischen 0,672 und 59,56 mU pro ml. Im Gegensatz zu Erwachsenenuntersuchungen anderer Autoren [26, 32] stellten wir fest, daß auch bei der ICDH bei Kindern die Serumaktivität nicht immer erhöht war; in 12 von 56 Fällen lagen die Meßwerte noch im Bereich der von uns ermittelten Normalwerte für Kinder von 0—12 Jahren mit $2,21 \pm 0,91$ mU/ml. Der Mittelwert der ICDH-Aktivität

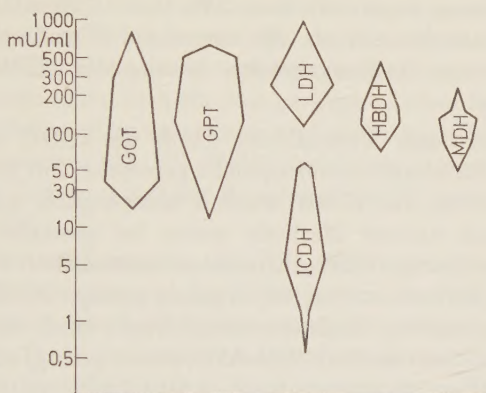


Abb. 2. Darstellung eines Enzymmusters unter besonderer Berücksichtigung der ICDH bei der akuten Virushepatitis eines Kleinkindes. Die Länge der einzelnen Felder gibt die Aktivitätsschwankung an, die Breite der Felder die Häufigkeit der wiederholt gemessenen Werte

im Serum von Hepatitis-Kindern betrug $14,95 \pm 6,14$ mU/ml, und ist somit fast siebenmal höher als der Normalwert bei Gesunden. Dieser Mittelwert wird für Erwachsene um ein Mehrfaches höher angegeben [6, 17, 26, 31, 32]. In einem Fall von Lebercirrhose ergab sich bei leicht erhöhten Transaminasen ein normaler ICDH-Wert (3,76 mU/ml). In einem Fall von Lebermetastasen bei Wilms-Tumor waren die ICDH sowie die Transaminasen im Bereich der Norm.

Bei den von uns im Berichtszeitraum behandelten vier Fällen von *Mucoviscidose* wurden erhöhte Serumenzymwerte für ICDH, GOT, LDH und LAP auf das Zwei- bis Vierfache der Norm gefunden. Leberschädigungen waren klinisch in diesen Fällen nicht nachweisbar, Bilirubin- und Eiweißlabilitätsproben waren normal.

Bei vier Kindern mit *Myopathien* (Erbsche Muskeldystrophie, sekundäre Myopathien, Myatonia congenita Oppenheim) wurden unterschiedliche Serumenzymaktivitäten festgestellt. Bei progressiver Muskeldystrophie (Typ Erb) und bei der Myatonia congenita Oppenheim zeigten die ICDH sowie alle anderen von uns untersuchten Serumenzyme deutliche Erhöhungen bis zum zehnfachen Normalwert, die bei sekundären

Myopathien fehlen. Die Diagnosen dieser Erkrankungen wurden durch Elektromyogramm und andere Untersuchungen gesichert.

Bei *Hyperbilirubinämien verschiedener Ursachen* wurde neben den Transaminasen und anderen Enzymen besonders die ICDH wiederholt kontrolliert. Wir konnten keinen Unterschied in der Enzymaktivität bei Rh- oder ABO-Unverträglichkeit finden. Die Werte zu Beginn der Austauschtransfusionen lagen zwischen 3,76 und 17,55 mU/ml und fielen nach dem Austausch rasch ab. Mit erneutem Bilirubinanstieg kam es wiederum zu einem vorübergehenden Anstieg der ICDH und anderer Dehydrogenasen.

Bei 23 Kindern mit *Meningitiden* wurde die ICDH neben anderen Enzymen auch im Liquor cerebrospinalis gemessen. Zur Feststellung des Liquornormalwertes der ICDH wurden neurologisch gesunde Kinder untersucht. Nach unserer Methode waren bei gesunden Kindern im Liquor keine meßbaren ICDH-Aktivitäten nachweisbar. Frühere Untersuchungen von RYMENANT [19, 20] ergaben geringe ICDH-Aktivitäten, die allerdings in anderen Einheiten ausgedrückt sind. Bei Kindern mit seröser Meningitis waren die ICDH-Aktivitäten gering, ebenso bei Tbc- und Meningokokkenmeningitis mit einem Mittelwert von 0,63 bis 1,25 mU pro ml, bei der Pneumokokkenmeningitis fanden wir etwas höhere Werte von 0,75 bis 6,89 mU/ml, während die höchsten Werte bei der Influenzameningitis mit 5,64 bis 6,89 mU/ml gemessen wurden.

Die ICDH wurde auch bei *Kindern mit verschiedenen anderen Erkrankungen* untersucht; eine statistische Auswertung wurde wegen der geringen Zahl aber nicht vorgenommen.

Die *Nephritis* und *Nephrose* verursachten nur vorübergehend leichte Erhöhungen bis max. 6,89 mU/ml; bei einem Kind mit einer Myokarditis lag der ICDH-Wert im Serum bei 5,0 mU/ml, während bei einem Kleinkind mit Encephalomyokarditis die ICDH auf 45,2 mU/ml angestiegen war, wobei auch die Transaminasen und die LDH auf das Zehnfache gesteigert waren. *Infektionskrankheiten* des Kindesalters (Mumps, Scharlach, Pertussis, Mb. Pfeiffer, Enteritis) ergaben normale oder an der oberen Normgrenze liegende Werte. *Schwere Enteritiden* und *Toxikosen* ließen keine ICDH-Erhöhung erkennen, während andere Dehydrogenasen gesteigert im Serum nachweisbar waren. Bei einem dreijährigen Jungen mit einem Erythema toxicum (LYELL) betrug die ICDH 17,6 mU/ml. Bösartige Tumoren im Kindesalter verursachten keine Erhöhungen der ICDH im Serum.

Im Brandblasenserum wurde eine Erhöhung der ICDH zwischen 8,2 und 24,5 E gemessen ohne Korrelation zur Ausdehnung und Tiefe der Verbrühung. Vier Kinder mit leichten Vergiftungen (Terpentin, Phenacetin, Alkohol) wiesen keine ICDH-Steigerungen auf.

Besprechung der Ergebnisse

Es wird angenommen, daß die Enzymausstattung der kindlichen Leber ab 3. Lebensjahr der des Erwachsenen entspricht. Daher sind die unterschiedlich starken Enzymaktivitäten im Serum bei Kindern und Erwachsenen mit akuter Hepatitis wahrscheinlich nicht allein durch das Ausmaß von Zellschäden verursacht. Dagegen sprechen die schnelle Normalisierung der mitochondrialen GLDH sowie die überwiegend symptomarmen elektronenoptischen Befunde und die meist vollkommene Ausheilung unabhängig von der Höhe der Serumenzymwerte. Die geringere Bilirubinämie bei Kindern kann auch für eine geringere Zellschädigung sprechen. Für große celluläre Enzymverluste sind nicht unbedingt ausgedehnte Nekrosen erforderlich [23, 27]. Wahrscheinlicher ist eine Permeabilitätssteigerung der Zellwand und der Mitochondrien [17] sowie eine pH-Änderung intracellulär.

Bei den Verlaufskontrollen bei Hepatitis epidemica ergab sich in Analogie zu Untersuchungen bei Erwachsenen ein Rückgang zum Normalwert innerhalb von 2—3 Wochen nach der klinischen Manifestation der Krankheit. Einer der entscheidenden Gründe mag in der sehr kurzen Halbwertszeit der ICDH liegen. Nach unseren derzeitigen Kenntnissen liegt der zusätzliche Aussagewert der ICDH-Messungen bei akuten Hepatitiden vor allem in der Verlaufsbeobachtung, wobei Rezidive schnell erfaßt werden.

Zwischen der entzündlichen Aktivität eines Leberprozesses und dem Anstieg der ICDH-Aktivität im Serum besteht ein qualitativer, nicht aber quantitativer Zusammenhang. Die bei der Mucoviscidose erhobenen Befunde weisen darauf hin, daß eine Leberschädigung schon frühzeitig auftreten kann; ob die Enzymsteigerung allein durch eine Affektion der Leber verursacht ist oder auch durch Enzyme aus dem Lungenparenchym, ist noch nicht entschieden. Der oft chronische Sauerstoffmangel dieser Kinder mag eine weitere Ursache für die Enzymerhöhung durch Permeabilitätssteigerungen sein.

Bei der *progressiven Muskeldystrophie* hängen die Serumenzymaktivitäten ab vom Typ der Erkrankung, von deren Dauer und vom klinischen Schweregrad. Für die ICDH wie auch für andere TPN-abhängige Muskelenzyme (G-6PDH, PGDH) gilt, daß beim histologischen Schweregrad 1 der progressiven Muskeldystrophie eine deutliche Steigerung der Enzymaktivität in der Zelle feststellbar ist. Die Höhe des Enzymwertes ist auch abhängig vom Alter des Kindes. Je älter die Kinder werden, desto unspezifischer wird das Enzymmuster; die Serumaktivitäten nehmen schließlich Normalwerte an, da die Muskulatur soweit abgebaut ist, daß aus der Muskelzelle keine Enzyme mehr freigesetzt werden können. Der diagnostische Wert der Bestimmung der ICDH im Liquor cerebrospinalis

ist noch umstritten, vor allem solange die Ursache des Anstiegs nicht geklärt ist. Umschriebene Gewebenekrosen, vermehrte Enzymbildung der entzündeten Zellen und vor allem Austritt von ICDH aus den Leukocyten können eine ursächliche Rolle spielen. Immerhin ist die ICDH im pathologisch veränderten Liquor nachweisbar.

VAN RYMENANT [19] glaubt, durch die Bestimmung der ICDH-Aktivität im Liquor cerebrospinalis ein diagnostisches Hilfsmittel bei primären und sekundären Tumoren des zentralen Nervensystems zu besitzen. Oft sei ein Anstieg der Enzymaktivität zu messen, noch bevor Zell- oder Eiweißvermehrung nachgewiesen wird. Die bei der Enteritis erhobenen Befunde stimmen nur teilweise mit denen durch frühere Untersuchungen erhaltenen Ergebnisse überein, so daß die ICDH keine diagnostische oder prognostische Hilfe bei dieser Erkrankung bietet. Der Nachweis der ICDH als Hauptkettenenzym im Verbrühungsblaseninhalt ist ein weiterer Hinweis auf das Ablaufen des Citronensäurecyclus in der Epidermis. Mit Hilfe der ICDH-Bestimmung im Serum lassen sich also weder über die Schwere der Erkrankung noch über die Prognose sichere Aussagen machen. Ein zur Diagnostik geeignetes Enzym sollte sich durch hohe intracelluläre Aktivität, geringe Haftfestigkeit, rasche Permeationsgeschwindigkeit und mittellange Halbwertszeit im Serum auszeichnen. Diese Eigenschaften treffen für die in allen lebenden Zellen des Organismus verbreitete ICDH nur zum Teil zu. Ihre intracelluläre Aktivität schwankt in den verschiedenen Organen; sie ist sehr hoch in solchen mit starker aerober Glykolyse, was ihrer Stellung im Citronensäurecyclus entspricht. Da über die Mechanismen der Enzymeliminierung aus der Zelle bisher nur eine Reihe von unvollständigen Theorien besteht, lassen sich über die Permeationsgeschwindigkeiten der Enzyme in Verbindung mit ihrer Haftfestigkeit an intracelluläre Strukturen nur unzureichende Aussagen machen. Aus der Lokalisation der ICDH (90% im Cytoplasma) und aus dem raschen Anstieg der ICDH-Serumaktivität bei akuter Hepatitis könnte man auf eine geringe Haftfestigkeit und große Permeationsgeschwindigkeit schließen.

Nur bei akuten Erkrankungen von Organen mit hohem ICDH-Gehalt wird man eine Steigerung der Enzymaktivität erwarten können, da die Serumaktivität ein Maß für die Differenz zwischen Invasions- und Eliminationsrate des Enzyms darstellt. Die diagnostische Bedeutung der ICDH beschränkt sich somit im Kindesalter auf akute Krankheitsverläufe.

Zusammenfassung

Bei 312 erkrankten Kindern im Alter bis zu 12 Jahren wurde die Aktivität der Isocitratdehydrogenase (ICDH) im Serum ermittelt, um deren mögliche diagnostische Bedeutung für die Pädiatrie festzustellen.

Dem Krankengut wurde ein Normalkollektiv von 176 gesunden Kindern gegenübergestellt.

Die Normalwerte der ICDH-Aktivität im Serum bei Neugeborenen liegen zwischen 1,88 und 8,76 mU mit einem Mittelwert von $4,8 \pm 2,2$ mU; bei Kindern bis zu 12 Jahren zwischen 0 und 5,13 mU mit einem Mittelwert von $2,21 \pm 0,91$ mU. In 80% der Fälle von akuter Virushepatitis zeigte die Serum-ICDH Aktivitätserhöhungen bis zu 59,6 mU/ml, wobei das Ausmaß der Erhöhungen der ICDH bei akuter Virushepatitis keinen sicheren Schluß auf Schwere und Prognose der Erkrankung zuläßt. Der diagnostische Wert der ICDH bei Erkrankungen im Kindesalter liegt vor allem in den akuten Krankheitsverläufen (akute Virusmyokarditis oder Virushepatitis). Im Liquor cerebrospinalis gesunder Kinder war keine Aktivität nachweisbar, im pathologischen Liquor fanden sich unterschiedliche Erhöhungen, die keinen differentialdiagnostischen Rückschluß erlaubten.

Literatur

1. ADLER, E.: Isocitric dehydrogenase and glutamic acid synthesis in animal tissues. *Biochem. J.* **331**, 1028 (1939).
2. AEBI, U., u. R. RICHTERICH: Zur Biochemie der Enzyme. *Helv. med. Acta* **30**, 353 (1963).
3. BENJAMIN, E., M. WEST, and H. J. ZIMMERMANN: XII. Transaminases, glycolytic and oxidative enzymes in normal infants and children. *Amer. J. Dis. Child.* **105**, 261 (1963).
4. BERGMAYER, H. U.: Methoden enzymatischer Analyse. Weinheim/Bergstraße: Verlag Chemie 1962.
5. BOWERS, G. N.: Measurement of isocitric dehydrogenase activity in body fluids. *Clin. Chem.* **5**, 509 (1959).
6. BRAUNS, M. TH.: Untersuchung über die klinische Brauchbarkeit der ICDH. *Diss. Med. Akad. Düsseldorf* 1965.
7. CORNELIUS, CH.: Serum isocitric dehydrogenase activities in domestic animals. *Cornell Vet.* **51**, 559 (1961).
8. DAWKINS, M., W. W. MACGREGOR, and G. MCLEAN: The detection of placental degeneration during pregnancy. Serum isocitric. Dehydrogenase activity. *Lancet* **1959 II**, 827.
9. FRANKEN, F. H., M. TH. BRAUNS, G. STORCK u. F. KAZMEIER: Die diagnostische Bedeutung der ICDH und der Glutathionenreduktase bei Lebererkrankungen. *Klin. Wschr.* **38**, 800 (1960).
10. FEISSELI, S.: Normalwerte und Alterung von Hauptkettenenzymen im Serum. *Klin. Wschr.* **44**, 390 (1966).
11. GAUTIER, E., u. R. RICHTERICH: Serumenzyme für die Pädiatrie (I). Normalwerte. *Helv. paediat. Acta* **17**, 415 (1962).
12. — Der diagnostische Wert der Aktivitätsabweichungen der Serumenzyme für die Pädiatrie (II). *Helv. paediat. Acta* **17**, 415 (1962).
13. HEYCK, H., u. G. LAUDAHN: Enzymaktivitätsänderungen im Muskel bei Dystrophia musculorum progressiva. *Klin. Wschr.* **41**, 500 (1963).
14. KLAUS, D.: Diagnostische Möglichkeiten mittels Bestimmung der Serum-Isocitronensäure-Dehydrogenase. *Verh. dtsh. Ges. inn. Med.* **66**, 219 (1960).
15. KREBS, J. A.: Persönliche Mitteilung.

16. MARKERT, C. L.: Multiple forms of enzymes: Tissue, ontogenetic, and species specific patterns. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **45**, 753 (1959).
17. REES, K. R., and K. P. SINHA: Blood enzymes in liver injury. *J. Path. Bact.* **80**, 297 (1960).
18. RYMENANT, M. VAN, and J. HENRY: Enzymes in clinical medicine. *New. Engl. J. Med.* **261**, 1325 (1959).
19. — J. ROBERT, and J. OTTEN: Isocitric dehydrogenase in the cerebrospinal fluid. *Neurology (Minneap.)* **16**, 351 (1966).
20. — Dosage de la déhydrogenase isocitrique dans la sclérose en plaques (du liquide céphalo-rachidien). *Acta neurol. belg.* **63**, 454 (1963).
21. SITZMANN, F. C., u. U. STEPHAN: Untersuchungen zur Frage der Leberbeteiligung bei der cystischen Pankreasfibrose im Kindesalter. *Arch. Kinderheilk.* **3**, 263 (1967).
22. SÜDHOF, H., u. E. WÖTZEL: Über die Haltbarkeit von zur Enzym-Aktivitäts-Bestimmung vorgesehenen Serumproben. *Klin. Wschr.* **38**, 1165 (1960).
23. SCHMIDT, E., F. W. SCHMIDT u. E. WILDHIRT: Aktivitätsbestimmungen von Enzymen des energieliefernden Stoffwechsels in der menschlichen Leber bei der akuten Hepatitis und ihren Ausheilungszuständen. *Klin. Wschr.* **36**, 227 (1958).
24. — — Bedeutung und Grenzen der Enzymdiagnostik im Serum. *Klin. Wschr.* **38**, 810 (1960).
25. — — Enzym-Muster menschlicher Gewebe. *Klin. Wschr.* **38**, 957 (1960).
26. — — Enzym-Bestimmungen im Serum bei Leberkrankheiten. *Enzymol. biol. clin.* **3**, 1—52 (1963).
27. — — Zur Methodik von Enzymbestimmungen in menschlichen Organextrakten und im Serum. *Enzymol. biol. clin.* **3**, 73 (1963).
28. — — Untersuchungen über optimale Reaktionsbedingungen für Enzym-Aktivitätsbestimmungen. *Enzymol. biol. clin.* **4**, 201 (1963).
29. SCHÖN, H., u. R. BRAUNE: Untersuchung über den Wert der Glutaminsäuredehydrogenase und der Isocitronensäuredehydrogenase in der Serumfermentdiagnostik. *Ärzt. Forsch.* **17**, 531 (1963).
30. TSAO, M. U.: Heterogeneity of tissue dehydrogenates. *Arch. Biochem.* **90**, 234 (1960).
31. WHITE, L. P.: Some enzymes in the comparison of multiple serum enzyme levels. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **75**, 349 (1958).
32. WOLFSON, S. K., J. A. SPENCER, R. L. STERKEL, and H. G. WILLIAMS-ASHMAN: Clinical and experimental studies on serum pyridine nucleotide linked dehydrogenases in liver damage. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **75**, 260 (1958).
33. WOLFSON, S. K. jr., and H. G. WILLIAMS-ASHMAN: Isocitric and 6-phosphogluconic dehydrogenases in human blood serum. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **96**, 231 (1957).

Priv.-Doz. Dr. F. C. SITZMANN
 R. KURTH
 Universitäts-Kinderklinik
 852 Erlangen, Loschgestraße 15

Untersuchungen über die Aktivität der Isocitratdehydrogenase in den Erythrocyten gesunder und kranker Kinder

R. KURTH* und F. C. SITZMANN

Universitäts-Kinderklinik Erlangen-Nürnberg (Direktor: Prof. Dr. A. WINDORFER)

Eingegangen am 15. November 1967

* D 29.

Determination of Isocitricdehydrogenase in Erythrocytes of Healthy Children and of Children with Various Diseases

Summary. ICD and glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PDH) were determined in healthy children as well as in children with various diseases. In healthy children the normal value for the ICD lies between 14.2 and 42.1 mE/10⁹ erythrocytes. For the G-6-PDH the normal values are between 130.1 and 388.3 mE/10⁹ erythrocytes with an average of 240.8 mE/10⁹ erythrocytes. The normal values are significantly wide spread, they are also depending on the age of the examined children. In our cases no significant decreases in the intraerythrocytic activity of the two enzymes could be stated in children with various diseases. Various enzymatic results show that the erythrocytes of newborns and young children are more different from those of adults than previously assumed.

Schlüsselwörter: Isocitratdehydrogenase — Erythrocytenenzyme bei Kindern.

In den letzten Jahren ist in der Literatur eine Reihe von Stoffwechselstörungen beschrieben worden, deren Ursache Mangel oder Vermehrung intraerythrocytärer Enzyme ist. Untersuchungen über das Verhalten der Isocitratdehydrogenase (ICDH) in den Erythrocyten gesunder und kranker Kinder sind bisher nur an kleinem Krankengut vorgenommen worden [8, 12, 14, 15, 19, 28]. Nachdem wir das Verhalten der ICDH im Serum bereits ausführlich untersucht hatten, stellte sich jetzt die Frage, ob aus Aktivitätsveränderungen der Erythrocyten-ICDH diagnostische Schlüsse abzuleiten sind.

Eigene Untersuchungen

Methodik

a) *Aufbereitung:* 0,2 ml peripheres, venöses Blut werden sofort nach der Entnahme dreimal mit 2 ml physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Die gewaschenen Erythrocyten werden anschließend in 0,5 ml Digitonin (0,87%ig) 15 min bei +4°C zur Hämolyse gebracht und anschließend 10 min bei 4000 U/min zentrifugiert. 0,2 ml Hämolysat wird

mit 0,8 ml Triäthanolaminpuffer (TRA) verdünnt; davon gelangen 0,1 ml zum Testansatz.

b) *Testansatz*: 2,8 ml Triäthanolaminpuffer (0,1 M Triäthanolaminpuffer, pH 7,5; 0,0046 M DL — Isocitrat; 0,052 M NaCl) werden mit 0,1 ml mit TRA verdünntem Hämolysat in ein Reagensglas pipettiert, gemischt und 5 min im Wasserbad bei 37°C inkubiert. Zusatz von 0,1 ml Triphosphorpyridinnucleotid (0,0091 MTPN; 0,12 M Mangansulfat). Gemessen wurde im Eppendorf-Photometer bei einer Wellenlänge von $366\text{m}\mu$ bei 37°C über 10 min in Quarzcuvetten ($d = 1\text{ cm}$); der Mittelwert $\Delta E/\text{min}$ der Extinktionsänderungen wurde zur Berechnung eingesetzt, das Ergebnis in $\text{mE}/10^9$ Erythrocyten angegeben. Die Glucose-6-Phosphatdehydrogenase wurde in Anlehnung an die Methode von KORNBERG gemessen [13] bei 25°C.

Ergebnisse

a) *Untersuchungsergebnisse bei gesunden Kindern*. Wir untersuchten die Normalwerte der ICDH-Aktivität in den Erythrocyten von 98 Kindern, zusätzlich die der G-6-PDH bei 80 Kindern jeweils im Alter von 1 Tag bis zu 14 Jahren, mit annähernd gleichmäßiger Verteilung auf die einzelnen Altersklassen; bei den Kindern fanden sich keine Blutbildveränderungen. Bei wenigen Stunden alten reifen Neugeborenen betrug der höchste gemessene Wert $42,1\text{ mE}/10^9\text{ E}$, 98 ermittelte Normalwerte lagen zwischen $20\text{—}31\text{ mE}/10^9\text{ E}$. 98 ermittelte Normalwerte lagen zwischen $20\text{—}31\text{ mE}/10^9\text{ E}$. Bei Kindern im Alter bis zu $\frac{1}{2}$ Jahr ergaben sich Mittelwerte von $21,8\text{ mE}/10^9\text{ E}$. Am stärksten war der Abfall der Enzymaktivität der ICDH bereits in den ersten beiden Lebenswochen, bis auf $60\text{—}70\%$ des Ausgangswertes am 1. Lebenstag, wobei sich die Streubreite allerdings als sehr groß erwies. Die G-6-PDH lag mit durchschnittlich $240,8\text{ mE}/10^9\text{ E}$ an der oberen Normgrenze für Erwachsene und ließ für die verschiedenen Altersstufen ebenfalls eine größere Schwankungsbreite erkennen mit Werten von $130,1\text{—}388,3\text{ mE}/10^9\text{ Ery}$. Der Aktivitätsabfall in den ersten Lebenswochen war hier nicht so auffallend.

Je niedriger die Zahl der Erythrocyten im Blutbild lag, desto größer war die Aktivität der ICDH und G-6-PDH; eine Korrelation zwischen Reticulocytenzahl und der Enzymaktivität war aber nicht festzustellen; ein Geschlechtsunterschied fehlte. Zum Vergleich wurden ICDH und G-6-PDH in den Erythrocyten 26 Erwachsener untersucht; die Aktivität der ICDH lag zwischen $12,8\text{—}14,9\text{ mE}/10^9$ Erythrocyten, die der G-6-PDH zwischen $168\text{—}200\text{ mE}/10^9$ Erythrocyten.

b) *Ergebnisse bei kranken Kindern*. Im Rahmen weiterer Enzymuntersuchungen berücksichtigten wir besonders die ICDH und die G-6-PDH in Erythrocyten von Kindern mit verschiedenen Erkrankungen, um mögliche Abweichungen der Aktivitäten von den Normalwerten zu erfassen.

Bei 35 Kindern mit Infektionskrankheiten, Systemerkrankungen, Blutgruppeninkompatibilität, Blutungsanämien, hämolytischem Ikterus und Meningitiden war keine Verminderung der Aktivität beider Enzyme nachweisbar. Die Schwankungsbreite der Werte war auch hier groß, besonders bei fieberhaften Erkrankungen; ein Kind mit einer hochfieberhaften Streptokokkenangina zeigte eine Erhöhung der ICDH auf 118,3 mE/10⁹ Erythrocyten. Signifikante Erhöhungen der beiden Enzyme waren bei Neugeborenen mit Blutgruppenunverträglichkeit gefunden worden, allerdings ohne Unterschied zwischen Rh- und ABO-Inkompatibilität (Tabelle).

Tabelle. *Enzymaktivitäten der ICDH und G-6-PDH in den Erythrocyten bei Kindern mit Blutgruppeninkompatibilität*

Art der Blutgruppenunverträglichkeit	Alter	ICDH (mE/10 ⁹ E)	G-6-PDH (mE/10 ⁹ E)	Hb (g%)	Ind. Bilirubin (mg%)
Rh/rh	2 Tage	75,2	389,5	14,8	13,4
Rh/rh	1 Tag	43,1	300,4	15,1	5,3
Rh/rh	1 Tag	55,6	276,8	15,4	4,0
Rh/rh	2 Tage	81,4	389,5	14,0	10,6
Rh/rh	3 Tage	55,6	250,3	15,8	10,8
Rh/rh	2 Tage	45,2	251,8	15,7	8,4
Rh/rh	4 Tage	45,2	265,3	15,2	19,5
Rh/rh	2 Tage	60,8	294,4	16,0	10,6
Rh/rh	3 Std	41,7	304,8	16,0	4,3
Rh/rh	3 Tage	67,9	276,8	15,4	12,8
Rh/rh	12 Std	118,4	408,7	16,2	6,2
B/O	3 Tage	40,3	280,5	16,0	6,8
B/O	2 Tage	43,1	289,4	16,5	4,5
A/O	4 Tage	45,2	300,4	16,0	4,5
A/O	2 Tage	58,7	240,8	15,1	8,3
B/O	2 Tage	73,4	300,4	14,6	10,4

Besprechung der Ergebnisse

Die bereits früher angegebenen Unterschiede in der Enzymausstattung der Erythrocyten bei Neugeborenen und Erwachsenen [10, 16, 22—25, 27] kann für die G-6-PDH und die ICDH bestätigt werden. Ein Vergleich unserer Werte mit denen in der Literatur ist dadurch erschwert, daß eine andere Methode gewählt und die Aktivitäten in mE/10⁹ Ery. angegeben wurden. Nach entsprechender Umrechnung stellt man aber fest, daß die von anderen Autoren ermittelten Werte bei Neugeborenen etwa in der gleichen Größenordnung liegen [1, 17, 30].

Als Ursache der Aktivitätsunterschiede zwischen Neugeborenenerythrocyten und denen älterer Kinder und Erwachsener stehen ein unterschiedlicher Zelltyp, Unterschiede im mittleren Zellalter bei Neugebore-

nen, Kindern und Erwachsenen und eine negative Rückkopplung zwischen Pyrimidinsynthese und Bildung jener Enzyme, die an die Pyrimidinsynthese gekoppelt sind, zur Diskussion.

Für die Enzyme der Glykolyse [5, 6, 9, 21], des Pentosephosphat-cyclus [7, 8, 17, 26], des Citronensäurecyclus [16, 25], für die Transaminasen [10, 27], für die Acetylcholinesterase [11, 18], Glyoxalase [11, 18], Katalase [15, 18, 29], Carboanhydrase [3, 29], Hexokinase, Phosphofructokinase [8, 17], die DPNH-abhängige Methämoglobinreduktase sowie anderen Enzyme [4, 5, 17, 20] wurde ein Zusammenhang zwischen dem Alter der Erythrocyten und erhöhtem Enzymgehalt gesichert.

Die unterschiedlich lang dauernde Angleichung der Erythrocytenenzyme der Säuglinge an die der Erwachsenen deutet darauf hin, daß es sich nicht um einen einfachen Ersatz fetaler Zellen durch normale Erythrocyten handelt, sondern daß eine allmähliche Anpassung mit langsam abnehmender Syntheserate vorliegt, ähnlich wie BETKE [2] dies für die Hämoglobin F-Konzentration nachweisen konnte. Die bekannte verminderte Enzymstabilität der Neugeborenenerythrocyten sowie die im Rahmen der Glykolyse auf Kosten der Lactatbildung erhöhte Pyruvatbildung [30] und der Mangel an 2,3-Diphosphoglycerat [22, 23] weisen auf die Eigenständigkeit des Stoffwechsels der Neugeborenenerythrocyten hin. Die erhöhten Enzymkonzentrationen des Neugeborenenerythrocyten sind nicht allein durch mehr kernhaltige Zellen und Reticulocyten bedingt, sondern wahrscheinlich dadurch, daß die Leistung des Erythrocyten in diesem Lebensabschnitt höher und außerdem auch das Zellvolumen des Neugeborenenerythrocyten größer ist [1, 24]. SMITH u. BAKER [24] konnten an Zellen des Knochenmarks nachweisen, daß die intraerythrocytären Enzyme, bezogen auf 1 g nichthämoglobinäres Eiweiß, im normoblastischen Knochenmark mit starker erythrocytärer Hyperplasie und unreifen Zellen der Erythropoese in geringerer Konzentration vorhanden sind als vergleichsweise in den normalen Zellen des Knochenmarks. Diese Autoren betonen die Wahrscheinlichkeit eines „negativen Rückkopplungsmechanismus“. Danach sind die mit der Pyrimidinsynthese gekoppelten Enzyme in jenen peripheren Erythrocyten und Leukocyten erhöht, die eine extrem niedrige Pyrimidinkonzentration aufweisen. Diese niedrige Konzentration des Pyrimidins stimuliert wahrscheinlich die Bildung jener Enzyme, die auf den früheren Stufen der Pyrimidinsynthese benötigt werden. Man könnte annehmen, daß auch die Enzyme des Energiestoffwechsels in die fortlaufende Stimulation einbezogen werden. Bei einem Fall von megaloblastischer Anämie konnte diese Enzymerhöhung für die ICDH- und G-6-PDH-Aktivitäten in Erythrocyten von uns bestätigt werden, wie sie WALLER u. LÖHR [28] bei Erythroleukämie und auch bei megaloblastischer Anämie fanden.

Mit Hilfe der Enzymuntersuchungen in den Erythrocyten könnte man bei einheitlichen Methoden also Rückschlüsse auf das mittlere Alter der Erythrocytenpopulation ziehen [18, 19, 21, 28]. Der Energiebedarf des Erythrocyten wird vorwiegend durch den anaeroben Glucoseabbau gedeckt, während der geschlossene Citronensäurecyclus bislang nicht nachgewiesen wurde. Lediglich Malatdehydrogenase [21, 25], ICDH [12, 21, 28, 30], Succinodehydrogenase und Oxalsuccinatdehydrogenase wurden im Erythrocyten gefunden. Zum Nachweis der Neubildung dieser Enzyme wären In-vivo-Untersuchungen an einer durch Transfusion isolierten Erythrocytengeneration mit Hilfe immunologischer Differentialagglutination nötig. Verlaufsmessungen bei kranken Kindern über 10—14 Tage ließen wiederholt einen Anstieg der ICDH-Aktivität bei gleichzeitigem Rückgang der Reticulocyten und der Normoblasten erkennen, so daß diese Zellen hier sicherlich nicht verantwortlich für einen Anstieg der Enzymaktivitäten sind.

Bei unseren Untersuchungen fiel uns aber ein paralleles Verhalten der G-6-PDH, einem essentiellen Enzym der Erythrocyten und der ICDH, einem wahrscheinlich nicht mehr essentiellen Enzym, auf. So war die ICDH immer dann erhöht nachweisbar, wenn auch die G-6-PDH-Aktivität gesteigert war. Auch Verlaufsmessungen ergaben die gleichen Befunde. Zur weiteren Sicherung dieser Daten wurde der Korrelationskoeffizient nach PEARSON berechnet:

$$r = \frac{\sum (x - \bar{x}) (y - \bar{y})}{n \cdot s_x \cdot s_y}$$

$$s_x = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}}; \quad s_y = \sqrt{\frac{\sum (y - \bar{y})^2}{n - 1}}$$

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{n}; \quad \bar{y} = \frac{\sum y}{n}.$$

Es ergab sich ein Koeffizient von 0.82; dies bedeutet, $r > 0$ und somit ein gleichsinniges Verhalten, welches um so zuverlässiger gilt, je näher r dem Grenzwert 1 kommt. In Ergänzung dazu erfolgte die Berechnung der Regressionsgeraden nach der Formel:

$$y = a + bx, \text{ wobei } b_{yx} = \frac{\sum (x - \bar{x})^2 (y - \bar{y})^2}{n \cdot s_x^2}; \quad a = \bar{y} - b\bar{x}.$$

Die Gleichung lautet: $y = 12,26 + 0,043x$. Die Streuung der Werte um die Regressionsgerade wurde nach der Formel berechnet:

$$Syx = \sqrt{\frac{\sum (y^2) - [a \sum (y) + b \sum (xy)]}{n}}; \quad \text{sie betrug } \pm 2,11.$$

Die Abb. 1 zeigt die Regressionsgerade mit 40 Einzelwerten gesunder Säuglinge für G-6-PDH und ICDH. Diese beiden Variablen sind nun

durch die Streuung und den Korrelationskoeffizienten weiter charakterisiert sowie durch den Winkel α der Regressionsgeraden. Damit ist eine Korrelation zwischen diesen beiden Erythrocytenenzymen nachgewiesen; es besteht ein „positiver Zusammenhang geringer Stärke“.

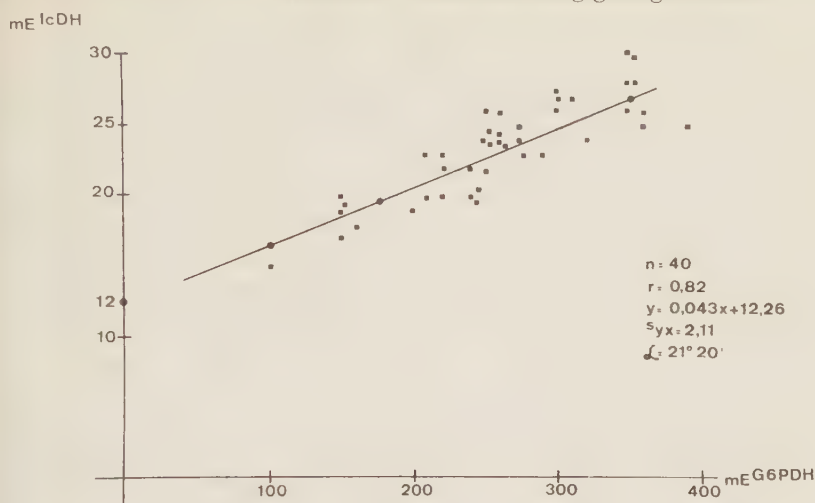


Abb. 1

Diese Befunde lassen aber nicht den Schluß zu, daß der Citronensäurecyclus im Erythrocyten abläuft; möglicherweise wird aber zumindest teilweise dieser Stoffwechselweg zur Energiegewinnung herangezogen, zumal wir weiter eine Korrelation zwischen dem Enzymgehalt der Erythrocyten und der Erythrocytenzahl im peripheren Blut in dem Sinne feststellten, daß mit Verringerung der Erythrocyten (Anämie) ein Anstieg der Enzymaktivität erfolgte ohne gleichzeitige Vermehrung der Reticulocyten.

Die in der Tabelle angegebenen Befunde der ICDH- und G-6-PDH-Aktivität bei Neugeborenen mit Blutgruppenunverträglichkeit zeigen signifikante Erhöhungen im Vergleich zu den altersgemäßen Befunden. Dies ist wahrscheinlich dadurch bedingt, daß die aus extramedullären Blutbildungsherden stammenden Erythroblasten höhere Enzymkonzentrationen aufweisen [6, 16]. Bei einem Kind mit Megaloblastenanämie fanden wir eine 75fache Erhöhung der ICDH.

Die Untersuchungsergebnisse zeigen, daß die Erythrocyten von Neugeborenen und jungen Säuglingen nicht nur in morphologischer, sondern auch in funktioneller, d. h. biochemischer Hinsicht als eigenständige Zellen zu betrachten sind, die nicht nur solche Enzyme in vermehrter Aktivität besitzen, deren Stoffwechselweg in den Erythrocyten abläuft, sondern auch noch Hauptkettenenzyme, obgleich der Citronensäurecyclus

nicht mehr vollständig in diesen Zellen existiert. Diagnostische Rückschlüsse aus Erythrocytenaktivitätsveränderungen der ICDH lassen sich noch nicht ableiten.

Zusammenfassung

Bei gesunden und kranken Kindern wurden intraerythrocytäre Enzyme unter besonderer Berücksichtigung der ICDH und G-6-PDH gemessen. Die Normalwerte für die ICDH liegen zwischen 14,2 und 42,1 mE/10⁹ Erythrocyten (Höchstwert!), die der G-6-PDH zwischen 240 und 388,3 mE/10⁹ Erythrocyten. Bis auf die Blutgruppenunverträglichkeit konnte bei keiner von uns erfaßten Erkrankung eine signifikante Änderung der ICDH oder G-6-PDH festgestellt werden. Auf das unterschiedliche Verhalten der Enzyme in Neugeborenenerythrocyten und in jungen Erythrocyten Erwachsener wurde nochmals hingewiesen, ebenso auf eine Korrelation zwischen G-6-PDH und ICDH, die statistisch verifiziert wurde.

Literatur

1. BARTELS, H.: Die Enzyme des Energiestoffwechsels in Erythrozyten junger Säuglinge im Vergleich zum Erwachsenen. *Z. Kinderheilk.* **101**, 338 (1967).
2. BETKE, K., u. U. KLEIHAEUER: Fetaler und bleibender Blutfarbstoff in Erythrozyten und Erythroblasten von menschlichen Feten und Neugeborenen. *Blut* **4**, 241 (1958).
3. — Hämoglobin und Erythrozyten. In H. WIESENER (Hrsg.): *Entwicklungsphysiologie des Kindes*. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1963.
4. — CH. GÄRTNER u. G. SCHIEBE: Verminderung von Methämoglobinreduktion, Diaphoraseaktivität und Flavinen in Erythrozyten junger Säuglinge. *Arch. Kinderheilk.* **170**, 66 (1964).
5. BLUM, K. U.: Enzymbestimmungen bei hämatologischen Erkrankungen. *Internist* **3**, 112 (1962).
6. BOCK, H. E., H. D. WALLER, G. W. LÖHR u. O. KARGES: Besonderheiten im Fermentgehalt von Megalozyten. *Klin. Wschr.* **36**, 151 (1958).
7. GROSS, R. T., and R. E. HURWITZ: The pentose phosphate pathway in human erythrocytes. *Pediatrics* **22**, 453 (1958).
8. —, A. R. SCHROEDER, and S. A. BROUNSTEIN: Energy metabolism in the erythrocytes of premature infants compared to full term newborn infants and adults. *Blood* **21**, 755 (1963).
9. HELLER, P., H. G. WEINSTEIN, M. WEST, and H. J. ZIMMERMANN: Enzymes in anämia. *Ann. intern. Med.* **53**, 898 (1960).
10. JACOBI, H., H. EY u. W. KÜNZER: Untersuchungen über das Verhalten der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) in Erythrozyten von gesunden Kindern und Kindern mit verschiedenen Anämieformen. *Z. Kinderheilk.* **94**, 239 (1965).
11. JONES, P. E. H., and R. A. McCANCE: Enzyme activities in the blood of infants and adults. *Biochem. J.* **45**, 464 (1949).
12. KAPLAN, E., and T. J. TILDON: Changes in red cell enzyme activity in relation to red cell survival in infancy. *Pediatrics* **32**, 371 (1963).
13. KORNBERG, A., and B. L. HORECKER: *Methods in Enzymology*. I. New York: Acad. Press 1955.

14. KÜNZER, W., u. D. SCHNEIDER: Zur Aktivität reduzierender Fermentsysteme in den Erythrozyten junger Säuglinge. *Acta haemat. (Basel)* **9**, 346 (1953).
15. — E. SCHÜTZ u. E. AMBS: Untersuchungen zur Heinzkörperbildung. III. Zur Aktivität der Katalase im Neugeborenenblut. *Z. Kinderheilk.* **76**, 48 (1955).
16. LÖHR, G., u. H. D. WALLER: Zellstoffwechsel und Zellalterung. *Klin. Wschr.* **37**, 833 (1959).
17. LÖHR, G. W., u. H. D. WALLER: Erythrozytenfermente. In R. KEPP u. G. OEHLERT (Hrsg.): Blutbildung und Blutumsatz beim Feten und Neugeborenen. *Beih. Z. Geburtsh. Gynäk.* **159**, 119 (1962).
18. MARKS, P. Q., A. B. JOHNSON, and E. HIRSCHBERG: Effect of age on enzyme activity in erythrocytes. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* **44**, 529 (1958).
19. MARKS, A.: Studies on the mechanism of aging human red blood cells. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **75**, 95 (1958).
20. ROSS, J. D., and J. F. DESFORGES: Reduction of methemoglobin by erythrocytes from cord blood. *Pediatrics* **23**, 718 (1959).
21. SCHMIDT, E., u. F. W. SCHMIDT: Enzym-Muster menschlicher Gewebe. *Klin. Wschr.* **38**, 957 (1960).
22. SCHRÖTER, W., u. H. v. HEYDEN: Erythrozytenenzyme während der Entwicklung. *Z. Kinderheilk.* **94**, 263 (1965).
23. — u. P. WINTER: Der 2,3-Diphosphoglyceratstoffwechsel in Erythrozyten Neugeborener und Erwachsener. *Klin. Wschr.* **45**, 255 (1967).
24. SMITH, L. H. jr., and F. A. BAKER: Pyrimidine metabolism in man. III. Studies on leukocytes and erythrocytes in pernicious anemia. *J. clin. Invest.* **39**, 15 (1960).
25. STAVE, U., u. J. POHL: Altersabhängige Veränderungen von Enzymen der Glykolyse in Erythrocyten. *Z. Kinderheilk.* **83**, 618 (1960).
26. STEVENSON, S. S.: Carbonic anhydrase in newborn infants. *J. clin. Invest.* **22**, 403 (1943).
27. STEWART, A. G., and J. A. BIRKBECK: The activities of lactate dehydrogenase, transaminase and glucose-6-phosphate dehydrogenase in the erythrocytes and plasma of newborn infants. *J. Pediat.* **61**, 395 (1962).
28. WALLER, H., u. G. LÖHR: Beziehungen zwischen Blättchenstoffwechsel und Retraktion des Blutgerinnsels. *Dtsch. med. Wschr.* **86**, 897 (1961).
29. WERNER, E., u. H. HEIDERZ: Die Blutkatalaseaktivität des Kindes und ihre Beeinflussung durch Erkrankungen. *Z. klin. Chem.* **1**, 151 (1963).
30. WITT, I., H. MÜLLER u. W. KÜNZER: Vergleichende biochemische Untersuchungen an Erythrozyten aus Neugeborenen- und Erwachsenenblut. *Klin. Wschr.* **45**, 262 (1967).

Priv.-Doz. Dr. F. C. SITZMANN
R. KURTH
Universitäts-Kinderklinik
8520 Erlangen, Loschgestraße 15

Druck von J. P. Peter, Gebr. Holstein, Rothenburg o. d. Tbr.

Lebenslauf

Am 30. November 1942 wurde ich in Dresden als Sohn des selbständigen Kaufmanns Harald Kurth und seiner Ehefrau Loni, geb. Raddatz, geboren.

1948 Beginn des Volksschulbesuchs in Dresden.

1949 Flucht nach Hamburg, wo ich bis 1954 weiterhin die Volksschule besuchte und dann in die Alstertal-Oberrealschule überwechselte.

1956 Umzug nach Nürnberg, hier besuchte ich die Martin Behaim - Oberrealschule.

1960/61 als Stipendiat des American Field Service Austauschschüler in den Vereinigten Staaten.

1962 Abitur an der Martin Behaim - Oberrealschule.

Im Wintersemester 1962 Beginn des Studiums der Medizin an der Friedrich Alexander - Universität Erlangen.

Nach dem Sommersemester 1963 wurde das Vorphysikum, nach dem Wintersemester 1964 das Physikum abgelegt.

Ab Sommersemester 1964 Philosophie (Politische Wissenschaften, neuzeitliche Philosophie) als zweites Studienfach.

Im Sommer 1965 für einige Monate Entwicklungshelfer in Kamerun.

Im Sommer 1966 Sprachstudent an der Universität Caen, Frankreich.

Das Staatsexamen legte ich nach dem Wintersemester 1967 an der Universität Erlangen - Nürnberg ab.

